



(19) BUNDESREPUBLIK  
DEUTSCHLAND



DEUTSCHES  
PATENT- UND  
MARKENAMT

(12) **Patentschrift**  
(10) DE 198 10 901 C 1

(51) Int. Cl.<sup>6</sup>:  
**C 12 M 1/12**  
C 12 M 1/04  
C 12 M 3/06

(21) Aktenzeichen: 198 10 901.6-41  
(22) Anmeldetag: 13. 3. 98  
(43) Offenlegungstag: -  
(45) Veröffentlichungstag  
der Patenterteilung: 17. 6. 99

Innerhalb von 3 Monaten nach Veröffentlichung der Erteilung kann Einspruch erhoben werden

(73) Patentinhaber:  
Ascalon Gesellschaft für Innovation in der  
Medizintechnik mbH, 01796 Pirna, DE

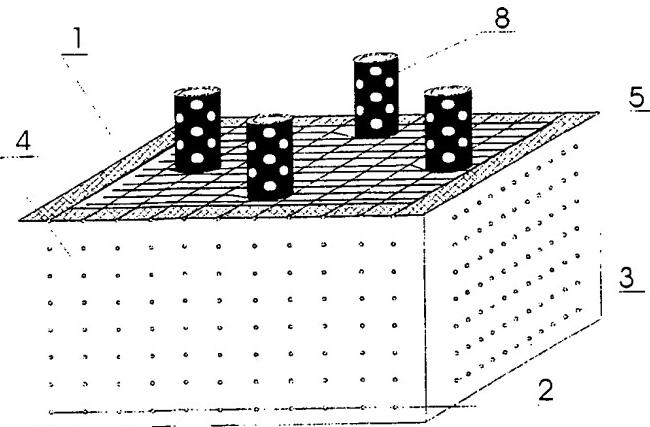
(74) Vertreter:  
Ilberg, Roland, Dipl.-Ing.; Weißfloh, Ingo, Dipl.-Ing.  
(FH), 01474 Schönfeld-Weißig

(72) Erfinder:  
Freifogel, Josef, 01809 Heidenau, DE; Marx, Uwe,  
Dr.Med., 04129 Leipzig, DE

(56) Für die Beurteilung der Patentfähigkeit in Betracht  
gezogene Druckschriften:  
DE 42 30 194 C2  
US 52 90 700  
JP 04-3 41 176 A (Abstract);  
JP 63-49 072 A (Abstract);

(54) Bioreaktor

(57) Die Erfindung betrifft einen Bioreaktor zur Versorgung, Vermehrung und Ernte von Mikroorganismen, Insekten-, Pflanzen- und Säugerzellen und/oder deren Stoffwechselprodukte, mit zwei voneinander unabhängigen Hohlfaser-Membransystemen in einem Gehäuse, von denen eines das im Extrakapillarraum befindliche Zuchtgut mit Nährstoffen versorgt und das andere zur Begasung des Zuchtgutes dient und mit mindestens einem Zugang und einem Abgang, die mit dem Extrakapillarraum verbunden sind, wobei die Hohlfaser-Membransysteme aus lagenweise zueinander auf Abstand gehaltenen und sich kreuzenden Hohlfasermatten (2, 3) gebildet sind.



198 10 901 C 1

DE 198 10 901 C 1

## Beschreibung

Die Erfindung betrifft einen Bioreaktor zur Versorgung, Vermehrung und Ernte von Mikroorganismen, Insekten-, Pflanzen- und Säuerzellen und/oder deren Stoffwechselprodukte.

Aus der DE 42 30 194 C2 ist eine Stoffaustauschvorrichtung für insbesondere den Bereich eines extrakorporalen Leberunterstützungssystems bekannt. Die Vorrichtung besteht aus einem dreidimensionalen Körper, der aus einem Außengehäuse und einem inneren Bereich besteht, wobei im inneren Bereich ein in Schichten dicht gepacktes räumliches Netzwerk aus drei, mindestens aber aus zwei unabhängigen und sich kreuzenden Hohlfaser-Membransystemen für den Mediumzufluß und für die Versorgung der Mikroorganismen mit Sauerstoff bzw. die Entsorgung von Kohlendioxid vorgesehen ist. Ein weiteres unabhängiges Membransystem in Form von auswechselbare Flachmembranen oder Kapillarmembranen ist für den Medienabfluß vorgesehen. In weiterer Ausgestaltung weist der Reaktor einen Zugang auf, um Mikroorganismen, speziell Leberzellen zur Verstoffwechselung von Blutbestandteilen, in den Reaktor einzufüllen. Hierzu ist die Gehäusewand entsprechend durchbohrt, wobei sich der Zugang in nicht näher offenbarter Weise auch als perforierte Röhre bis in den Reaktor hinein fortsetzen lassen soll. Die Vorrichtung ist sowohl für Konvektionsbetrieb als auch Diffusionsbetrieb gedacht. Das Gehäuse kann durch eine Ausgußmasse gebildet sein.

Der sehr komplizierte Aufbau der Vorrichtung wird dem Anspruch, verniehrungsunfähige Zellen, insbesondere Leberzellen, über eine längere Zeit zu erhalten und vermehren, gerecht.

Für eine schnelle Vermehrung von Mikroorganismen, Insekten-, Pflanzen- und Säuerzellen eignet sich die Vorrichtung nicht optimal, weil zwischen den einzelnen Membranen kaum Raum zur signifikanten Zunahme von Biomasse bleibt. Letztlich ist auch das Einfüllen der Mikroorganismen nicht optimal gelöst, weil aufgrund der hohen Packungsdichte und der unzureichenden Lüftfülltiefe nur eine ungenügende Verteilung der Zellen über den Zugang erfolgt. Für eine effektive Ernte von Mikroorganismen fehlen in der Vorrichtung entsprechende Voraussetzungen. Das verbrauchte Zellmaterial muß nitsamt dem Bioreaktor als Sondermüll entsorgt werden.

Aufgabe der Erfindung ist eine Anordnung zur optimalen Versorgung mit Nährstoffen und Gasen, zur optimalen Vermehrung und zur optimalen Ernte von Mikroorganismen und/oder deren Stoffwechselprodukte in einem Bioreaktor, zu entwickeln, wobei dieser selbst druckstabil, einfach, kompakt und kostengünstig im Aufbau sein soll sowie über eine lange Zeit ohne Leistungseinbuße arbeiten soll.

Die Aufgabe wird durch die im ersten Anspruch angegebenen Merkmale gelöst. Weitere vorteilhafte Ausführungen geben die begleitenden Unteransprüche an.

Um den Stoffaustausch sowie die Wachstumsbedingungen der Mikroorganismen zu maximieren und das Einbringen und Ernten des Gutes, insbesondere Zellgutes, schonend zu bewerkstelligen, dürfen die Membranen von Lage zu Lage nicht unmittelbar aufeinander liegen. Dieser Zustand ist jedoch bei einem dicht gepackten Netzwerk nach der DE 42 30 194 C2 vorhanden. Die Hohlfasern liegen aufeinander, wodurch es an hinreichend Raum zur Ausbreitung des Zuchtgutes fehlt und sich die wirksame Stoffaustauschfläche erheblich verkleinert.

Indem nun die Hohlfasermembranen erfundungsgemäß mattenartig auf Abstand geschichtet werden, wobei die Ersteckungsrichtung der Hohlfasern von Matte zu Matte um etwa 90° wechselt, entsteht ausreichend Raum zur gleich-

mäßigen Versorgung und Vermehrung des Zuchtgutes im Extrakapillarraum. Über mindestens einen Zu- und einen Abgang ist eine schonende und optimal verteilte Zufuhr des Zuchtgutes in den gesamten Extrakapillarraum möglich sowie eine schonende und verlustlose Ernte des vermehrten Zuchtgutes durch sanftes Herausspülen gesichert. Als Zu- und Abgänge können in weiterer Ausgestaltung der Erfindung durchgehende, makroperforierte Röhren dienen, die optional auf einer Seite, beispielsweise am Boden des Reaktors, dauerhaft verschlossen und auf der anderen Seite verschließbar sind und so parallel zueinander verlaufen, daß sie den Reaktorraum gleichmäßig unterteilen. Als abstandsgebende Mittel eignen sich Abstandsmatten oder gegossene Abstandsräume, Gitter, Verbindungsbahnen. Diese können so angeordnet werden, daß sie die freie Zu- und Abfuhr von Mikroorganismen (Biomasse) innerhalb einer Ebene gewährleisten.

Die Erfindung soll anhand eines Ausführungsbeispiels näher erläutert werden. In der zugehörigen Zeichnung zeigen

**Fig. 1:** schematisch einen Bioreaktor nach der Erfindung in perspektivischer Ansicht,

**Fig. 2:** Einzelheiten der Membranschichtung einschließlich einer makroperforierte Röhre innerhalb des Bioreaktors,

**Fig. 3:** die Draufsicht auf den quergeschnittenen Bioreaktor in stark schematisierter Darstellung und

**Fig. 4:** einen aus mehreren Modulen zusammengesetzten Bioreaktor.

In einem gegossenen Gehäuse 1 von im Beispiel quaderförmiger Außengestalt ist eine Vielzahl einlagiger Hohlfasermatten 2, 3, beispielsweise mehrere Hundert, abwechselnd kreuzweise übereinandergeschichtet. Der Begriff Matte soll ein im wesentlichen flächiges Gebilde definieren, ohne daß es unbedingt erforderlich wäre, dieses Gebilde mechanisch zu verbinden, beispielsweise zu verketten oder zu verkleben. Jede Hohlfasermatte 2, 3 besteht aus einer sehr großen Anzahl paralleler, einlagiger, semipermeabler Hohlfasern 4, 5. Die Enden der Hohlfasern 4, 5 sind in das Vergußmaterial des Gehäuses 1, beispielsweise ein bioverträgliches Polyurethan, eingegossen, wobei die Enden der Hohlfasern 4, 5 selbst zwecks Ein- und Auslaß für ein Fluid offen bleiben bzw. im Anschluß an den Verguß freigelegt werden. Das Fluid wird über nicht näher dargestellte, am Gehäuse 1 angesetzte Anschlußstutzen zu- und abgeleitet. Der Winkel zwischen den kreuzweise geschichteten Lagen beträgt vorzugsweise 90°. Die sich kreuzenden Lagen von Hohlfasermatten 2, 3 sind auf Abstand angeordnet, indem jeweils eine Abstandsmatte 6 aus Distributionsläden 7 zwischen jeder Lage von Hohlfasermatten 2, 3 angeordnet ist. Hierdurch wird genügend Raum zum Wachsen des Zuchtgutes im Extrakapillarraum des Bioreaktors gewonnen und ein effektiveres und schonenderes Einbringen, Versorgen und Ernten der Zellen und/oder deren Stoffwechselprodukte erreicht.

Die Distributionsläden 7 und die aus ihnen hergestellten Abstandsmatten 6 sind vergleichsweise dicker als die Hohlfasern und Hohlfasermatten 2, 3, beispielsweise haben die Distributionsläden 7 einen Außendurchmesser von größer 0,4 mm. Die Struktur der Abstandsmatten 6 ist relativ frei gestaltbar, vorzugsweise können die Distributionsläden 7 eine weitmaschige Gitterstruktur bilden, die von noch zu beschreibenden Röhren durchdrungen ist. Es genügen für die Zwecke des Auf-Abstand-Haltens der Hohlfasermatten 2, 3 Abstandsmatten 6, die aus nur wenigen Distributionsläden 7 bestehen.

Eine andere Möglichkeit des Auf-Abstand-Haltens besteht darin, ein Gitter oder eine einfache Unrandung aus vorzugsweise Vergußmaterial zwischen den Hohlfasermat-

ten 2, 3 vorzusehen. Beispielsweise kann unmittelbar beim Vergießen der Hohlfasermatten 2, 3 und Erzeugen der Gehäusewände solcherart Unrandung oder Gitter entsprechend der vorgegebenen Schichtfolge mitgegossen werden. Eine andere Möglichkeit besteht darin, Hohlfasermatten 2, 3 vorzufertigen, indem die Hohlfasern 4, 5 mit Bahnen einer Vergußmasse überzogen werden. Die Vergußbahnen dienen dann zugleich als Abstandhalter. Auf diese Weise kann auch der gesamte Matteneinsatz vorgefertigt werden.

Das Vergießen erfolgt bei würfelförmigen Reaktoren vorzugsweise dadurch, daß die Vergußdüse entsprechend der zu gießenden Außenkontur automatisch geführt wird. Gehäuse mit zylindrischer Innenform lassen sich durch Einbeiten in einer Zentrifuge herstellen.

Alle Hohlfasermatten 2 einer Ausrichtung dienen zur Begasung der Zellen und/oder deren Stoffwechselprodukte im Extraktorraum, wobei das Gas durch die Membranwände der Hohlfasern 3 blasenfrei diffundiert und bestehen vorzugsweise aus hydrophobem Material. Ihr Innendurchmesser beträgt etwa 0,3 mm. Alle hierzu im Winkel von vorzugsweise 90° angeordneten Hohlfasermatten 3 bestehen aus hydrophilem Material und haben die Aufgabe, die Zellen und/oder deren Stoffwechselprodukte mit Nährstoffen zu versorgen, die im gelösten Zustand die Membranwände der Hohlfasern 5 durchdringen können. Ihr Innendurchmesser beträgt etwa 0,2 mm. Die kreuzweise verlegten Hohlfasermatten 2, 3 bilden demnach zwei voneinander unabhängige Membransysteme, nämlich das Nährstoffsystem und das Begasungssystem, jeweils durch Abstandsmatten 6, Gußbahnen, Gitter oder Rahmen auf Abstand gehalten. Der mittlere Mittenabstand zweier Lagen desselben Mattentyps beträgt vorzugsweise zwischen 0,5 mm und 5 Millimeter, je nach Zuchtgut und Volumen des Bioreaktors.

Nach einer besonderen Ausführung kann auch jeweils zwischen zwei kreuzweise dicht gepackten Hohlfasermattenspaaren (2, 3) ein Abstand vorgesehen werden, beispielsweise mittels einer Abstandsmatte 6 aus Distributionsläden 7 (Fig. 3).

Der Bioreaktor wird vorzugsweise, wie in Fig. 3 stark schematisiert dargestellt ist, von mindestens zwei Röhren 8 für das Einbringen und Entfernen des Zuchtgutes in einer Richtung quer zu den beiden Richtungen der Hohlfasermatten 2 durchsetzt. Die Röhren 8 haben einen wesentlich größeren Durchmesser als die Hohlfasern 4, 5, beispielsweise einen um den Faktor 20 größeren Innendurchmesser und können aus dem Gehäusematerial hergestellt sein. In ihrer Wandung sind makroskopische Perforierungen 9 vorhanden, durch die das Zuchtgut in den Extraktorraum kontrolliert und schonend eingebracht und nahezu verlustlos und schonend nach entsprechender Vermehrung durch sanftes Herausspülen aus dem Extraktorraum geerntet werden kann. Die Röhren 8 gewährleisten eine ausgezeichnete Verteilung der Zuchtgutes beim "Animpfen" im Innenraum des Bioreaktors. Die Röhren 8 verlaufen parallel zueinander und unterteilen den Extraktorraum etwa gleichmäßig. Sie sind an beiden Enden offen, aber verschließbar.

In Fig. 4 ist schematisch dargestellt, wie einzelne Reaktormodule zwecks Kapazitätserhöhung zu einem größeren Reaktor durch Aufeinandersetzen verbunden werden können. Die Röhren 8 sind an den Verbindungsstellen offen und erlauben so das durchgehängige Einbringen des Zuchtgutes bis zum Boden des Bioreaktors.

#### Bezugszeichenliste

- 6 Abstandsmatte
- 7 Distributionsläden
- 8 Röhre
- 9 Perforierung

#### Patentansprüche

1. Bioreaktor zur Versorgung, Vermehrung und Ernte von Mikroorganismen, Insekten-, Pflanzen- und Säugерzellen und/ oder deren Stoffwechselprodukte, mit zwei voneinander unabhängigen Hohlfaser-Membransystemen in einem Gehäuse, von denen eines das im Extraktorraum befindliche Zuchtgut mit Nährstoffen versorgt und das andere zur Begasung des Zuchtgutes dient und mit mindestens einem Zugang und einem Abgang, die mit dem Extraktorraum kommunizieren, **dadurch gekennzeichnet**, daß die Hohlfaser-Membransysteme aus lagenweise zueinander auf Abstand gehaltenen und sich kreuzenden Hohlfasermatten (2, 3) gebildet sind.
2. Bioreaktor nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, daß das Gehäuse (1) von makroporösen Röhren (8) für das Einbringen und Entfernen des Zuchtgutes quer zu den Hohlfasermatten (2, 3) durchsetzt ist.
3. Bioreaktor nach Anspruch 1 oder 2, dadurch gekennzeichnet, daß die Hohlfasermatten (2, 3) endseitig auf Abstand in den gegossenen Seitenwänden des Gehäuses (1) eingebettet sind.
4. Bioreaktor nach Anspruch 1 oder 2, dadurch gekennzeichnet, daß zwischen zwei Hohlfasermatten (2, 3) jeweils eine Abstandsmatte (6) aus wenigen Distributionsläden (7) angeordnet ist.
5. Bioreaktor nach einem der Ansprüche 1 bis 4, dadurch gekennzeichnet, daß Abstandsmatten (6) endseitig in den gegossenen Seitenwänden des Gehäuses (1) eingebettet sind.
6. Bioreaktor nach Anspruch 1 oder 2, dadurch gekennzeichnet, daß die Hohlfasern (4, 5) einer Hohlfasermatte (2, 3) mit zugleich definiert abstandsgebenden Vergußbahnen miteinander verbunden sind.
7. Bioreaktor nach den Ansprüchen 1 und 4, dadurch gekennzeichnet, daß abstandsgebende Rahmen oder Gitter vorhanden sind, die beim Gießen der Seitenwände des Gehäuses (1) mitgegossen sind.
8. Bioreaktor nach einem der vorhergehenden Ansprüche, gekennzeichnet durch Polyurethan oder Epoxidharz als Gießwerkstoff.
9. Bioreaktor nach einem der Ansprüche 1 bis 6, dadurch gekennzeichnet, daß der Mittenabstand zweier Hohlfasermatten (2, 3) desselben Hohlfasermembransystems 0,5 mm bis 5 mm beträgt.
10. Bioreaktor nach einem der vorhergehenden Ansprüche, dadurch gekennzeichnet, daß mehrere parallel zueinander und quer zu den Hohlfasermatten (2, 3) angeordnete makroporöse Röhren (8) gleichmäßig im Gehäuse (1) verteilt sind.
11. Bioreaktor nach Anspruch 10, dadurch gekennzeichnet, daß die Makroporen (9) einer Röhre (8) einen Durchmesser von 0,1 mm bis 10 mm aufweisen.
12. Bioreaktor nach Anspruch 10, dadurch gekennzeichnet, daß die Röhren (8) an ihren Enden verschließbar sind.
13. Bioreaktor nach einem der vorhergehenden Ansprüche, dadurch gekennzeichnet, daß jeweils zwischen zwei kreuzweise dicht gepackten Hohlfasermat-

tenpaaren (2, 3) ein Abstand vorgesehen ist.

Hierzu 4 Seite(n) Zeichnungen

5

10

15

20

25

30

35

40

45

50

55

60

65

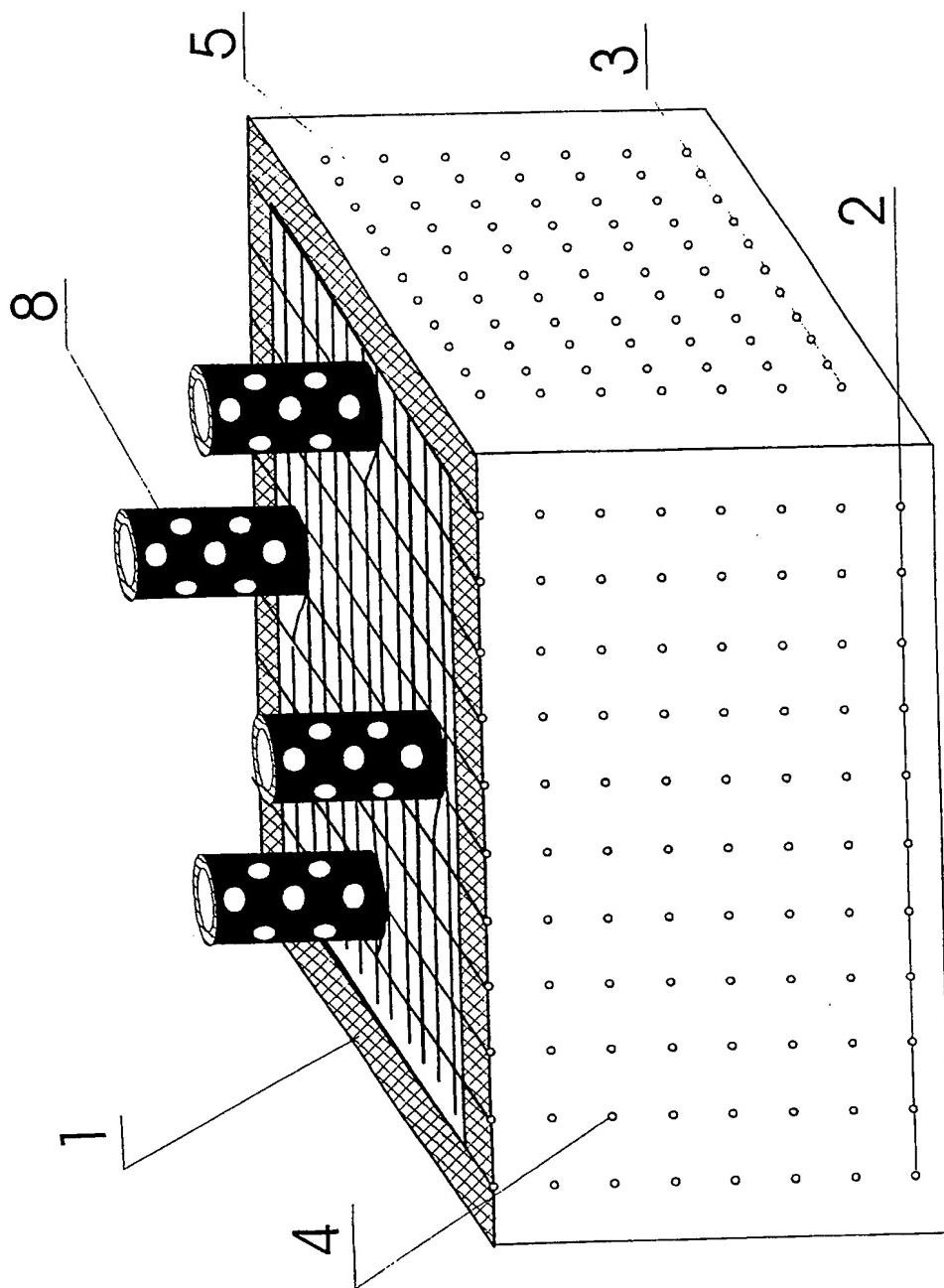


Fig. 1

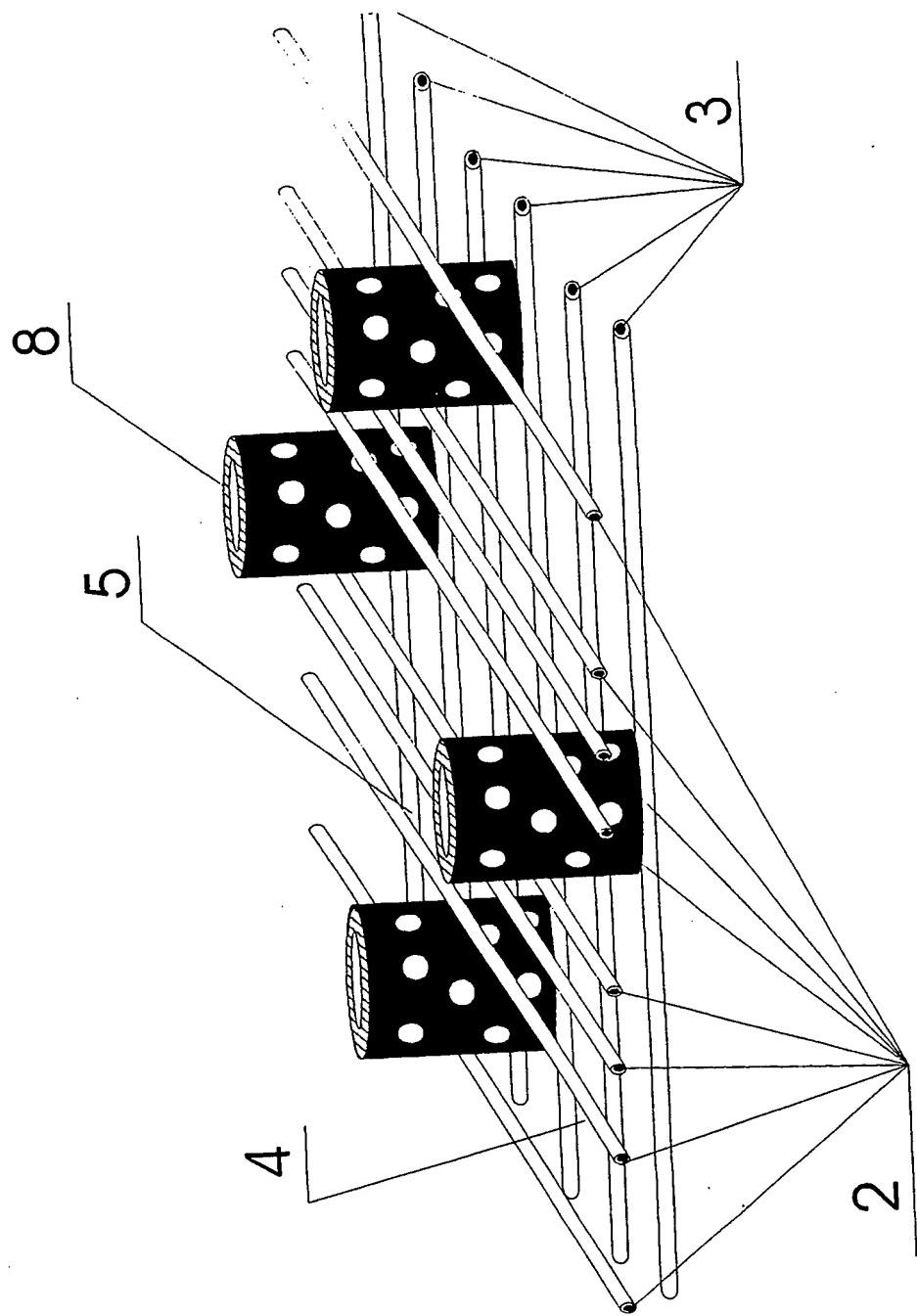


Fig. 2

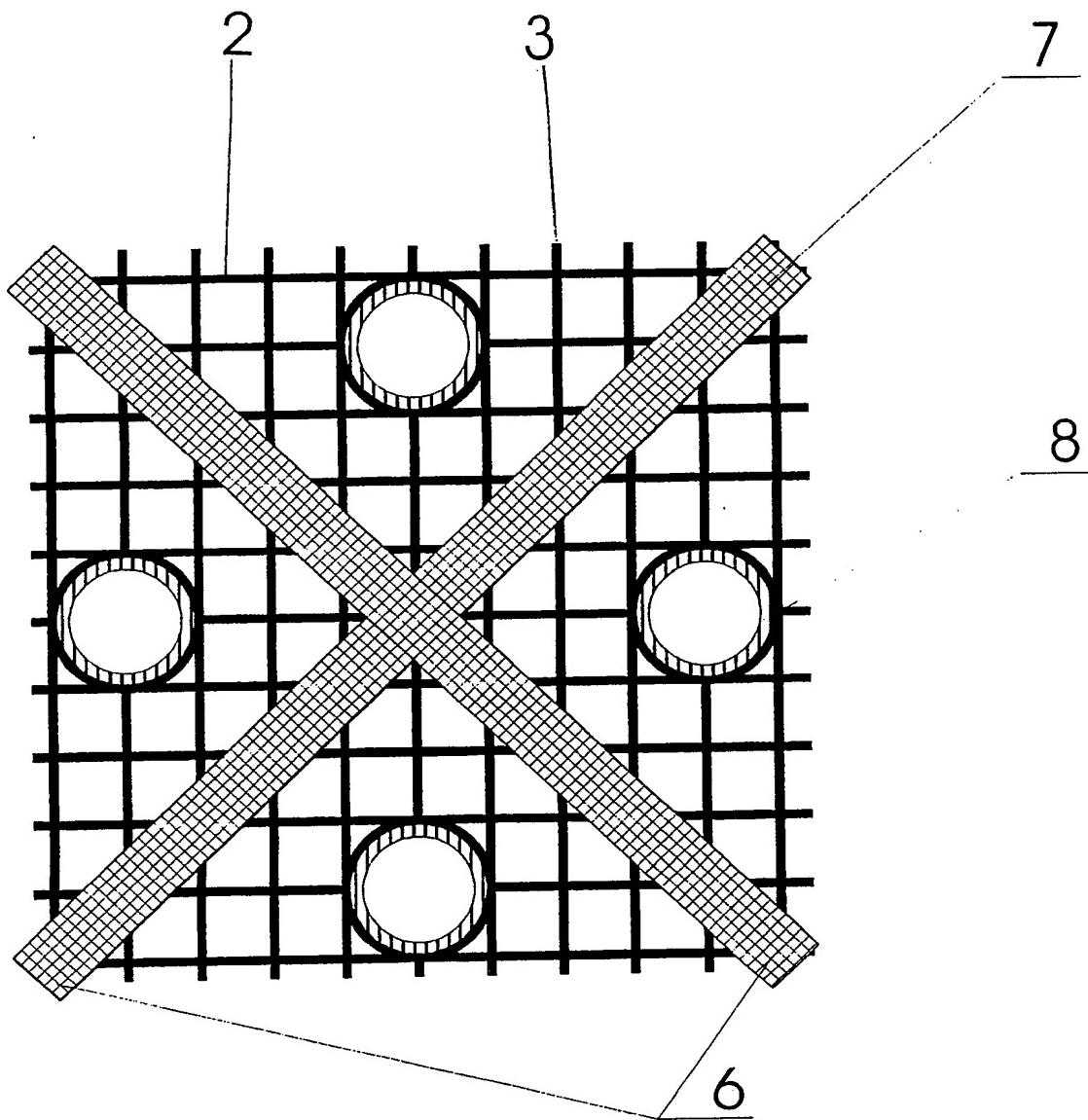


Fig. 3

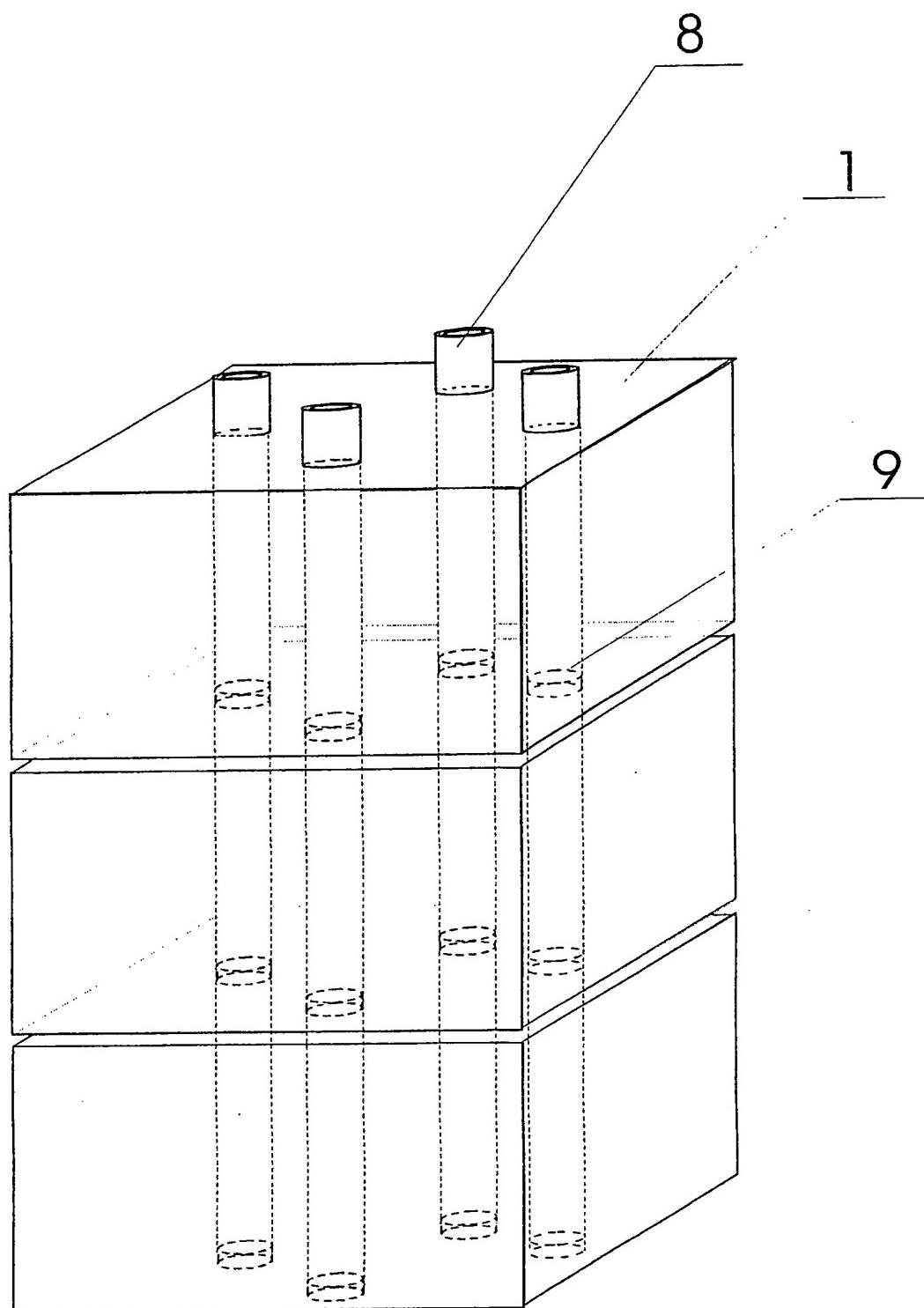


Fig. 4